

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POSGRADO

**RESPUESTA NATRIURETICA Y RESERVA FUNCIONAL
RENAL FRENTE A LA SOBRECARGA SECUENCIAL
CRÓNICA PROTEICO-SALINO EN MURINOS**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Fisiología

AUTOR

Edwin Rolando Castillo Velarde

Lima – Perú

2014

ÍNDICE GENERAL

CAPITULO 1: INTRODUCCION	pag
1.1 SITUACIÓN PROBLEMÁTICA.....	1
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.3 JUSTIFICACIÓN TEORICA.....	2
1.4 JUSTIFICACIÓN PRACTICA	2
1.5 OBJETIVOS	
1.5.1 OBJETIVO GENERAL.....	2
1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	3
 CAPITULO 2: MARCO TEORICO	
2.1. MARCO EPISTEMOLOGICO DE LA INVESTIGACION.....	4
2.2. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.....	5
2.2. BASES TEÓRICAS.....	5
 CAPITULO 3: METODOLOGÍA.....	12
 CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1. PRESENTACION DE RESULTADOS.....	17
4.2. PRUEBAS DE HIPOTESIS.....	28
4.3. ANALISIS, INTERPRETACION Y DISCUSION DE RESULTADOS..	28
 CONCLUSIONES.....	37
RECOMENDACIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39

LISTA DE CUADROS

	pag
CUADRO 1	14
CUADRO 2	15
CUADRO 3	16
CUADRO 4	19
CUADRO 5	21

LISTA DE CUADROS

FIGURA 1	18
FIGURA 2	20
FIGURA 3	22
FIGURA 4	23
FIGURA 5	23
FIGURA 6	24
FIGURA 7	24
FIGURA 8	25
FIGURA 9	25
FIGURA 10	26
FIGURA 11	27
FIGURA 12	29
FIGURA 13	30

RESUMEN

Palabras clave: Reserva funcional renal, natriuresis, dieta hiperprotéica

La presente tesis tuvo como fin demostrar los cambios en la filtración glomerular y respuesta natriuretica, asociados a una dieta hiperprotéica crónica, con una exposición final de sobrecarga salina. Las variables a evaluar fueron los cambios en la reserva funcional renal y natriuresis. Se realizó un estudio analítico experimental en 18 ratas macho adultas Holtzman entre 8 y 14 semanas de vida en un periodo de estudio de 12 semanas. La distribución inicial fue de 3 grupos. El primer grupo recibió una dieta hiperprotéica de fuente animal de 30% (n:6) y fue comparado con una normoprotéica de fuente animal de 18% (n:6), un tercer grupo recibió una dieta hiperprotéica de fuente vegetal de 30% (n:6). Las dietas fueron isocalóricas y normosódicas (0.25%). Desde la semana 8, cada grupo fue dividido en 3 ratas cada uno, y recibió una dieta hipersódica (1.5%) y normosódica (0.25%) respectivamente. Se realizaron controles periódicos de natriuresis en 24 horas y filtración glomerular. Se utilizó la prueba estadística de Wilcoxon y de Friedman para evaluar los cambios de los resultados de cada grupo y las pruebas de U de Mann-Whitney y de Kruskal Wallis, para evaluar los resultados entre los diferentes grupos. Los resultados mostraron que la dieta hiperprotéica de origen animal o vegetal incrementó la reserva funcional renal. Las de fuente de origen animal generaron un mayor incremento inicial en la natriuresis, en comparación a una de fuente de origen vegetal, que no incrementó la natriuresis. Sin embargo, un incremento sostenido de la reserva funcional renal o hiperfiltración asociado a la exposición de dieta hiperprotéica de origen animal o vegetal, no se asoció crónicamente a incrementos en la natriuresis. Luego de la sobrecarga sostenida de sal, la respuesta natriuretica estuvo conservada en los grupos sometidos previamente a dietas hiperprotéicas, y no hubo modificaciones a nivel de la filtración glomerular. La conclusión fue que una dieta hiperprotéica genera un incremento persistente en la reserva funcional renal asociado a un incremento agudo pero no crónico en la natriuresis; sin afectar la capacidad natriuretica luego de una sobrecarga de sal.

ABSTRACT

This thesis was aimed to demonstrate the changes in glomerular filtration and natriuretic response, associated with chronic protein diet, and a final saline overload. The variables assessed were changes in renal functional reserve and natriuresis. An analytical study was performed experimentally in 18 adult male Holtzman rats between 8 and 14 weeks of life in a study period of 12 weeks. The initial distribution was 3 groups. The first group received an animal source hyperprotein diet of 30% (n = 6) and was compared with a normoprotein from animal source 18% (n = 6), a third group received a vegetal source hyperprotein diet of 30% (n: 6). The diets were isocaloric and normosódic (0.25%). From week 8, each group was divided into 3 rats each, and received a high-sodium diet (1.5%) and normosódica (0.25%) respectively. Periodic checks were performed to 24 hours natriuresis and glomerular filtration. We used the Wilcoxon statistical test and Friedman to evaluate changes in the results of each test group and Mann-Whitney and Kruskal Wallis, to evaluate the results between different groups. The results showed that the hyperprotein diet of animal or vegetal origin increased renal functional reserve. The animal source generated a higher initial increase in natriuresis, compared to a vegetal source, which does not increase natriuresis. However, a sustained increase in renal functional reserve and hyperfiltration associated with hyperprotein diet exposure of animal or vegetal source, was not associated chronically with increases in natriuresis. After sustained overload of salt, the natriuretic response was preserved in the groups previously subjected to hyperprotein diets, and there was no change at the level of glomerular filtration. The conclusion was that a protein diet produces a persistent increase in renal functional reserve associated with increased acute but not chronic natriuresis, without affecting natriuretic capacity after an overload of salt.

CAPITULO 1: INTRODUCCION

1.1. Situación Problemática

Los mecanismos de respuesta de la función renal a diferentes estímulos, como la sobrecarga proteica y salina, son conocidos por los cambios generados en la filtración glomerular y respuesta natriuretica. Dichos cambios han sido evaluados experimentalmente en forma aguda frente a la sobrecarga proteica, pero no se hallan reportes sobre los cambios adaptativos potenciales que ocurrirían frente a una exposición crónica. Conocer dichos cambios puede permitir una mejor interpretación de los mecanismos de autorregulación renal, así como la interacción con otros estímulos como la sobrecarga salina. El presente estudio tiene como fin demostrar dichos cambios en murinos, frente a una exposición proteica sostenida, y otras respuestas derivadas de la interacción con otros estímulos como la sobrecarga salina, permitiendo conocer los mecanismos fisiológicos subyacentes a nivel renal.

1.2. Formulación del Problema

¿Existen cambios en la respuesta natriuretica y reserva funcional renal frente a la sobrecarga crónica proteico-salina en forma secuencial en murinos?

1.3. Justificación Teórica

Los mecanismos de autorregulación fisiológica renal es un campo en continua investigación. Los cambios relacionados a la respuesta natriuretica y de reserva funcional renal tienen relevancia para poder a su vez entender mecanismos fisiológicos en la regulación de sal en un modelo expuesto a sobrecarga proteica crónica.

1.4. Justificación Práctica

La práctica experimental en murinos se realizará en el laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El análisis de las diferentes pruebas bioquímicas se realizará en el Laboratorio de Bioquímica del Hospital Guillermo Almenara. La elaboración de las dietas de experimentación cuenta con la coordinación del Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

1. Determinar la respuesta natriuretica y reserva funcional renal en relación a una sobrecarga crónica proteica y salina en forma secuencial en murinos.

1.5.2. Objetivo Específico

1. Determinar los cambios de la reserva funcional renal que ocurren frente a una exposición crónica de una dieta normoprotéica e hiperprotéica de origen animal y hiperprotéica vegetal.
2. Determinar las diferencias en la respuesta natriurética que existen entre una exposición crónica a una dieta normoprotéica e hiperprotéica de origen animal y hiperprotéica vegetal
3. Determinar las diferencias que existe en la respuesta natriurética luego de una exposición crónica de dieta normoprotéica e hiperprotéica de origen animal, hiperprotéica vegetal y sobrecarga aguda y sostenida de sal secuencial.

CAPITULO 2: MARCO TEORICO

2.1. Marco Epistemológico de la Investigación

Existen mecanismos de regulación renal conocidos frente a una exposición aguda de una dieta hiperprotéica, que incluyen incremento de la TFG, del FPR, no cambios en la fracción de filtración y disminución de la resistencia vascular renal. Asimismo, una exposición aguda luego de una dieta hiperprotéica genera incremento de la natriuresis. Tanto la respuesta natriuretica como la capacidad de incremento de la TFG o reserva funcional renal se han estudiado en forma aguda, mas no en su seguimiento.

Es justificable el incremento de natriuresis asociado a una dieta hiperprotéica, por el incremento de la sobrecarga de sodio filtrada asociada al incremento del filtrado glomerular. Sin embargo, se considera que la respuesta natriuretica podría conllevar mecanismos de autorregulación con el fin de evitar una excreción urinaria de sodio sostenida en el tiempo.

La interacción entre incremento de la filtración glomerular y mecanismos de autorregulación de sodio en el tiempo, hipotetiza que existirían cambios en relación a la capacidad natriuretica frente a una sobrecarga salina sostenida. Considerando, que podría generarse una reabsorción tubular primaria de sodio sostenida en el tiempo al detectarse cambios iniciales por el incremento de natriuresis.

2.2. Antecedentes de Investigación

Existen diversos estudios en donde se describen los cambios que ocurren en la fisiología renal frente a una dieta hiperprotéica, en los que se mencionan cambios hemodinámicos glomerulares tales como hiperfiltración y hiperemia; incremento de la excreción de proteinuria, y cambios en el balance hidroelectrolítico generando un aumento de la natriuresis, kaliuresis y diuresis (Fernandez, Van Loon, & Maldonado, 1989; Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003). La hiperfiltración ha sido vinculada a una disminución de la resistencia vascular renal, lo cual se traduce en una menor síntesis de prostaglandinas con acción vasoactiva como la PgE2 (Esposito, 2007; Tolins & Raij, 1991; Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003). Asimismo, se han descrito variaciones del tipo de respuesta en relación a diferentes tipos de dieta proteicas utilizadas, como aquellas provenientes de fuentes animales que se asocian a un mayor aumento de la tasa de filtración glomerular, del flujo plasmático renal, a diferencia de fuentes vegetales (Ayad, Silva, & Kim, 1996; Tolins & Raij, 1991; Kontessis, Jones, & Dodds, 1999; Fernandez, Van Loon, & Maldonado, 1989; Friedman, 2004). Sin embargo estos estudios han sido diseñados para evaluar los cambios agudos en la función renal, y no los cambios crónicos. Finalmente, se conocen los mecanismos de autorregulación aguda y crónica derivados de una sobrecarga salina, pero no en el contexto de una exposición crónica hiperprotéica.

2.3. Bases Teóricas

Reserva funcional renal

La reserva funcional renal es definida como la capacidad de incrementar la tasa de filtración glomerular en respuesta a un estímulo vasodilatador. Los riñones solo utilizan una parte de su capacidad de filtración, y reclutan el resto cuando requieren incrementar su filtración (Barai, Gamnhir, Prasad, Sharma, & Ora, 2010). En el embarazo por ejemplo, se describe un incremento de la depuración desde 118 +/-6

ml/min hasta 223 +/-9 ml/min luego de una sobrecarga proteica en la dieta. La secreción tubular de creatinina y la concentración urinaria de creatinina por el volumen urinario minuto (UxV) aumenta luego del consumo de carne roja cocinada. Por ello, un incremento de la TFG (tasa de filtración glomerular) luego de una sobrecarga proteica, podría ser 20 a 30% menor que la depuración estimada (Heguilén, Liste, & Bellusci, 2007).

Una dieta hiperprotéica es definida como aquella en la que el 25% o más de la ingesta calórica es proteica, o si el consumo diario es mayor de 1.5 g/kg. Entre las consecuencias conocidas de una dieta hiperprotéica se mencionan: cambios en la hemodinamia glomerular, hiperfiltración e hiperemia, incremento de la excreción de proteinuria, trastornos ácido-base como natriuresis, kaliuresis, acidosis metabólica, cambios en la presión arterial con hipertensión y hipotensión ortostática, riesgo de nefrolitiasis por hiperuricosuria, hipercalciuria e hipocitraturia y osteodistrofia renal (Friedman, 2004).

El filtrado glomerular depende de dos variables: 1. Fuerza hidrostática y coloidosmótica, y 2. Coeficiente de filtración capilar, que a su vez depende de la permeabilidad y de la superficie de filtración capilar. En esta última variable es que recaen los diferentes mecanismos de regulación de la hemodinamia glomerular luego de una exposición a una dieta hiperprotéica (Fernández, Van Loon, & Maldonado, 1989; Giordano, Castellino, & McConnell, 1994).

Natriuresis: Control intrarrenal

Mencionaremos a continuación los diferentes mecanismos que se han descrito para el control intrarrenal de la Natriuresis.

El filtrado glomerular normal aporta aproximadamente 4000 mmol de sodio al día para su procesamiento en los túbulos. De esa cantidad el 98% es reabsorbido, y el resto representa la carga natriurética normal. Cambios entre carga filtrada y fracción de sodio reabsorbido pueden ejercer una profunda influencia acumulativa en el equilibrio global del sodio. Por ello existen diversos mecanismos homeostáticos para los ajustes en la reabsorción tubular de la carga filtrada de sodio (equilibrio glomerulotubular). En forma

general, cuando el volumen del líquido extracelular se mantiene constante, un aumento en la filtración glomerular, produce un escaso o nulo aumento en la excreción de sal. En cambio cuando el volumen del líquido extracelular se encuentra expandido, se produce grandes incrementos en la excreción de sal, incluso en presencia de un FG reducido. Sin embargo, los cambios en el filtrado glomerular asociados al volumen requieren de una autorregulación intrarrenal antes de explicar la natriuresis resultante, en donde intervienen diferentes factores físicos, nerviosos y hormonales (Brenner & Rector, 2005).

Entre los factores físicos peritubulares tenemos la conexión entre arteriola aferente y red capilar peritubular. Los cambios que ocurren en el FG afectan las presiones hidrostáticas y osmóticas de estos capilares. Si tenemos un aumento en el FG respecto al flujo plasmático (aumento de la fracción de filtración), mayor será la concentración de proteínas en la arteriola eferente y por consiguiente su capacidad hidrostática, favoreciendo la reabsorción proximal. Luego de una expansión aguda de volumen, ocurre una dilución de las proteínas plasmáticas reduciendo además la capacidad reabsortiva neta del capilar peritubular (Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003).

Factores lumbales intrarrenales que pueden afectar la natriuresis: El aumento de la llegada de solutos orgánicos asociado al incremento del FG contribuye a la velocidad con la que se reabsorben estos solutos, incluido el cloruro de sodio. Se ha observado que un aumento del filtrado glomerular secundario a mononefrectomía contralateral, se asocia a incremento en la absorción de líquidos a nivel del tubuli proximal. Esta tasa de reabsorción de sodio depende asimismo de la velocidad de flujo luminal (Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003).

Los segmentos distales también participan en el ajuste natriurético, pues una expansión masiva de volumen con albúmina hiperosmótica no necesariamente incrementa la natriuresis, lo que puede indicar una reabsorción distal de sodio. Previamente, el asa de henle posee la capacidad de aumentar la reabsorción de sodio en respuesta a cambios en la carga filtrada. En el túbulo colector también se ha descrito una reabsorción de sodio dependiente de la carga, sin embargo existen heterogeneidad entre los resultados obtenidos por micropunción o microcateterización experimental (Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003).

La natriuresis también es regulada en la hemodinámica medular renal. Se ha postulado que un aumento del volumen extracelular incrementa el flujo plasmático renal, con la pérdida de la hipertonicidad medular y de gradiente osmótico, y en consecuencia disminuye la capacidad de reabsorción de sodio en la rama ascendente de hénle. De ahí la importancia en la regulación presión-natriuresis (Brenner & Rector, 2005; Avendaño, 2003).

Por otro lado, una consecuencia de un menor nivel de sodio a nivel distal, puede incitar un mecanismo de feedback tubulo-glomerular, vasodilatando las arteriolas aferentes y en consecuencia inducir hiperfiltración (Brenner & Rector, 2005).

Entre los diferentes sistemas hormonales y paracrinos que desempeñan una función importante en la modulación de la relación presión-natriuresis, tenemos la actividad del SRAA y la producción local de prostaglandinas. El uso de inhibidores de la ECA o de inhibidores del receptor de la angiotensina I, potencian la natriuresis, mientras que el uso de inhibidores de la ciclooxigenasa la atenúa. Sin embargo el bloqueo farmacológico de estos sistemas no elimina por completo la respuesta de natriuresis por presión sino solo la modula (Suzuki, 2004).

La angiotensina II es secretada en la luz epitelial proximal de la nefrona, lo que provoca una alta concentración en aproximadamente 1000 veces más que en plasma. Además de su acción vasoconstrictora y de estimulación de la liberación de aldosterona, la angiotensina II posee acciones intrarrenales directas como la reabsorción neta de sodio proximal al activar bombas como Na/H o Na-K-ATPasa, y la modulación de la presión-natriuresis. Además el riñón es muy sensible a sus acciones, pues se requieren solo concentraciones picomolares para evidenciar cambios en la hemodinamia intrarrenal, a diferencia de las concentraciones con las que se observan sus efectos extrarrenales, que son 10 a 100 veces más. Se ha estudiado que la angiotensina II, posee un efecto bifásico dependiente de dosis sobre la reabsorción proximal de sodio. La perfusión capilar con bajas concentraciones estimularon la reabsorción, mientras que altas concentraciones la inhibían. Sin embargo dos mecanismos amplifican el efecto antinatriuretico de la angiotensina. Uno se relaciona al mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular que es activado por la menor llegada de carga de sodio a nivel distal secundario a la reabsorción proximal activa por angiotensina, debiéndose esperar un

cambio en la filtración como consecuencia de la arteriola aferente, sin embargo esto no sucede ya que este mecanismo es sensibilizado justamente por la angiotensina. Su segundo efecto es en la relación presión-natriuresis que desplaza la relación entre excreción de sodio y presiones más elevadas (Brenner & Rector, 2005; Hayo, 2010).

Se requieren concentraciones más elevadas de angiotensina para la producción de aldosterona, la cual está influida además por variables como la concentración de sodio y potasio en el plasma (Brenner & Rector, 2005).

Entre otras sustancias humorales, la arginina vasopresina (AVP) tiene controversia en su efecto en la natriuresis. Las prostaglandinas (principalmente PGI₂ y E₂), poseen un conocido efecto de vasodilatación preglomerular que puede inducir un lavado de solutos en el intersticio medular y ser responsable de la natriuresis. Otros hallazgos al margen de la acción hemodinámica de las prostaglandinas, puede relacionarse con su efecto en el asa ascendente gruesa de Henle y el túbulo colector, en donde puede inhibir la reabsorción de sodio, antagonizando los efectos osmóticos de la AVP (Brenner & Rector, 2005; Hayo, 2010).

En relación a los péptidos natriuréticos, el PNA principalmente ejerce su acción inhibiendo la reabsorción de sodio en el túbulo colector medular. Se han descrito otros mecanismos pero aún no esclarecidos. Sobre la acción del sistema nervioso, la actividad simpática influye en la natriuresis por los siguientes mecanismos: 1. cambios en la hemodinámica glomerular, 2. efectos en la liberación de renina, 3. efectos directos en la reabsorción tubular. Esta contribución nerviosa es significativa en condiciones de restricción de sodio y su necesidad de conservación es máxima (Brenner & Rector, 2005).

Las cininas también modulan la respuesta natriurética. El sistema cinina-kalikreína, puede producir concentraciones locales de bradicinina mucho más alta que en el plasma. Poseen 3 receptores, de los cuales los B₂ median sus acciones principalmente en el riñón, en donde produce vasodilatación, en un probable mecanismo dependiente de óxido nítrico. La bradicinina aumenta el flujo plasmático renal sin afectar significativamente el filtrado glomerular, o la reabsorción proximal de sodio, sin embargo disminuye la reabsorción de agua y sal a nivel distal, con lo que incrementa la

natriuresis. La ECA (enzima convertidora de angiotensina), esta implicada en la degradación de las cininas, y la angiotensina II se asocia a la deficiencia de bradicinina y oxido nítrico (Hayo, 2010).

La adrenomedulina, es otro péptido vinculado en la regulación del sodio, media la vasodilatación pre y post glomerular y genera diuresis y natriuresis dependiente de la dosis (Avendaño, 2003).

Reserva funcional renal. Dieta y mecanismos

Se ha descrito un mayor incremento en la perfusion renal luego de una infusión de aminoácidos sin generar cambios en la presión arterial en estudios de corto seguimiento. Hay evidencia, que soporta el rol de sustancias vasodilatadores como el oxido nítrico en incrementar la TFG y FPR en respuesta a una sobrecarga proteica, el cual puede ser inhibido al bloquear la síntesis de estas sustancias vasodilatadoras (Tolins & Raij, 1991; Fernandez, Van Loon, & Maldonado, 1989; Giordano, Castellino, & McConnell, 1994). A nivel experimental una menor ingesta proteica en ratas, se relaciona a una menor tasa de filtración glomerular, y reducción en la excreción de kalikreinas en orina (Ayad, Silva, & Kim, 1996).

El tipo de fuente proteica también es una variable que interviene en la hemodinamia renal. Individuos sanos que recibieron una dieta proteica de fuente vegetal, tuvieron una menor tasa de filtración glomerular versus aquellos que recibieron una dieta proteica de fuente animal (111 ± 4 vs 121 ± 4 ml/min/1.73 m², p <0.001). Aminoácidos como la metionina, y la lisina destacan en diferencia con mayor concentración en la fuente animal (Kontessis, Jones, & Dodds, 1999).

En ancianos la reserva renal, si bien se preserva, es menor que en adultos jóvenes. La pérdida de masa renal propia del envejecimiento se asocia a un incremento porcentual del número de glomérulos esclerosados, así como rigidez de la arteriola aferente. Estos cambios se relacionan con una disminución de la TFG, FPR y aumento de la fracción de filtración compensatoria, la que a su vez se relaciona con un incremento del nivel de sustancias vasodilatadoras (Esposito, Plati, & Mazzullo, 2007).

En conclusión la natriuresis, el filtrado glomerular en relación a su reserva funcional, dependen de múltiples variables fisiológicas. La relación de la dieta con sus variantes en tipo y concentración de proteínas, se conjugan con estas variables, que finalmente tienen impacto sobre la misma reserva funcional y natriuresis por los factores físicos y químicos, que poseen. Además, es importante agregar la adaptabilidad potencial desde un punto de vista fisiológico frente a un estímulo crónico. Se conoce que una sobrecarga proteica tiene como consecuencia un aumento de la natriuresis, lo cual se ha relacionado a dietas con bajo contenido de carbohidratos, y que conllevan una mayor producción de cetonuria asociada a pérdida de sodio en orina. Sin embargo este hallazgo, no se mantiene en el tiempo, ya que puede disminuir la excreción natriurética, lo cual puede relacionarse a un incremento en la excreción de amonio, el cual reemplaza al sodio como catión urinario obligado excretado (Friedman, 2004).

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

El diseño de la investigación fue un estudio analítico experimental, realizado durante el periodo comprendido entre julio y noviembre del 2012.

Los criterios de inclusión fueron: 1. Rata adulta sana, 2. Peso entre 150 a 250 gramos. Los Criterios de exclusión fueron: Valor de creatinina basal alterado (valores normales de 0.4-1.4 mg/dl) (Sharp, 1998), 2. Valor de hiper o hiponatriuresis en condiciones basales (valores normales: 28-190 mmol/24 horas) (Suckow, 2006).

Material y métodos

La muestra estuvo formada por 18 ratas macho adultas Holtzman entre 8 y 14 semanas de vida, cuyo peso fue mayor de 200 g. Luego de una semana de ser alimentadas con dieta balanceada, se procedió a separar aleatoriamente en tres grupos de dieta: HA, (hiperprotéica animal) (n:6), NA (normoprotéica animal) (n:6) y HV (hiperprotéica vegetal) (n:6) y a medición basal de natriuresis en 24 horas y depuración de creatinina en orina de 24 horas. La dieta de los tres grupos fue normosódica (0.25%). Semanalmente, se obtuvo natriuresis de orina de 24 horas en los tres grupos hasta la semana 4. Luego cada 2 semanas hasta la semana 8. El control de la depuración de creatinina, se realizó a las semanas 4, 8 y 12. A la semana 8, se procedió a separar aleatoriamente cada grupo en dos subgrupos de 3 ratas cada uno. Cada subgrupo de cada grupo de dieta recibió una dieta con sobrecarga salina (1.5%) desde la semana 8, a diferencia del subgrupo control restante de cada grupo de dieta que continuo con su misma dieta normosódica sin dicha sobrecarga salina. El control de natriuresis de la semana 8 se realizó un día

después de haber separado los subgrupos. Luego el control se realizó en la semana 9, 11 y 12. El control de peso fue semanal. Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción de la vena dorsal de la cola de la rata. La creatinina se determinó mediante el método colorimétrico basado en la reacción de Jaffe. El Filtrado Glomerular se definió según la fórmula para calcular la depuración de creatinina en orina de 24 horas: Ucreatinina (concentración urinaria de creatinina) multiplicada por el Volumen urinario minuto, y dividido por el Pcreatinina (concentración plasmática de creatinina). La Reserva funcional renal: Capacidad de incrementar la tasa de filtración glomerular en respuesta a un estímulo vasodilatador, y que se expresa en cambios en la tasa de filtración glomerular. La natriuresis fue definida como la cantidad de sodio eliminada en una muestra de orina de 24 horas, el método que se utilizó para su análisis fue mediante la fotometría de llama.

Las dietas fueron dos de fuente animal, isocalóricas con 18 y 30% de proteínas y una isocalórica de fuente vegetal con 30% de proteína. El agua ad libitum. La fuente proteica vegetal de la dieta, utilizó torta de soya, la cual contenía un 47% de proteínas (Laboratorio de evaluación nutricional de alimentos de la facultad de zootecnia de la UNAM). La fuente proteica animal utilizó harina de aves (carne de pollo), cuyo contenido proteico era de 77%. El análisis de dichas fuentes se muestra a continuación.

Cuadro 1. Análisis de la composición de la Torta de Soya y de la Harina de aves utilizada en el estudio. Los valores se muestran en porcentaje (%)

	Torta de Soya	Harina de aves
Materia seca	90.0	94.0
Proteína	47.0	77.3
Fibra	4.0	0.57
Grasa	1.0	12
Lisina	2.96	4.43
Metionina	0.67	0.82
Arginina	3.48	4.49
Treonina	1.87	3.31
Triptofano	0.74	0.60
Glicina	2.02	0.0
Histidina	1.28	2.26
Leucina	3.72	7.04
Isoleucina	2.12	2.24
Fenilalanina	2.34	0.0
Valina	2.22	5.38

La concentración mínima de proteínas requeridas para el crecimiento de las ratas se estima en un 15% aproximadamente para su crecimiento y reproducción. La mayoría de alimentos de dieta que se producen, contienen entre 18 y 25% de proteína, lo cual garantiza sus necesidades (Krinke, 2000; Sharp, 1998). El presente estudio calificó como dieta normoprotéica aquella que tenía un valor de 18%. En la literatura, se precisa como dieta hiperprotéica aquella que corresponde con una ingesta calórica derivada de las proteínas en más del 25% o si el consumo diario es mayor de 1.5 g/Kg/d. El presente estudio calificó como dieta hiperprotéica como aquella que tenía un valor de 30% (Friedman, 2004).

Los requerimientos de sal, se han estimado en el crecimiento en un 0.05%. lo cual equivale para una rata de 400 g un consumo de 10 mg/día de sodio o 25 mg/Kg. Algunas dietas comerciales estiman una concentración de sodio de 0.3 a 0.5%, sin

embargo cantidad excede los requerimientos de las ratas, ya que representa un consumo de 100 mg/día o 250 mg/Kg (Martus, Kim, & Garvin, 2005). En nutrición humana, se recomienda un consumo de 2400 mg/día de sodio o 34 mg/Kg. Considerando estas premisas, es que se consideró como normosódico un valor de 0.25%, y de hipersódico como 1.5%, que excede ampliamente los requerimientos.

Composición de las dietas experimentales

Cuadro 2. Análisis de dietas experimentales (normosódica, 0.25%) (Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos del Laboratorio Calidad Total de la Molina)

	Dieta Normoprotéica animal 18%	Dieta Hiperprotéica animal 30%	Dieta Hiperprotéica vegetal 30%
Proteína (g/100 g)	18.3	28.9	30.1
Humedad (g/100 g)	9.3	8.1	8.3
Grasa (g/100 g)	5.3	7.5	8.1
Cenizas (g/100 g)	4.9	4.7	6.5
Carbohidratos (g/100 g)	62.2	50.8	47.0
Energía total (Kcal/100 g)	369.7	386.3	381.3

Cuadro 3. Análisis de dietas experimentales (Hipersódica, 1.5%) (Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos del Laboratorio Calidad Total de la Molina)

	Dieta Normoprotéica animal 18%	Dieta Hiperprotéica animal 30%	Dieta Hiperprotéica vegetal 30%
Proteína (g/100 g)	18.0	26.9	27.3
Humedad (g/100 g)	7.8	7.1	7.4
Grasa (g/100 g)	5.8	8.9	10.7
Cenizas (g/100 g)	8.7	8.6	10.6
Carbohidratos (g/100 g)	59.7	48.5	44.0
Energía total (Kcal/100 g)	363.0	381.7	381.3

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Presentación de Resultados

En relación a los resultados del objetivo 1, sobre la determinación de los cambios de la reserva funcional renal frente a la exposición crónica de las diferentes dietas (hiperprotéica y normoprotéica de origen animal, y la hiperprotéica vegetal) los datos se muestran en la **figura N° 1 y 2** y en el **cuadro N°4**. Las ratas tuvieron un control adecuado de ganancia de peso, con un promedio basal de peso de 242 g con incremento promedio de peso de hasta el 62% en la semana 12, cuyo peso promedio de 349 g. El incremento de peso en todos los grupos fue acorde a la edad, con incrementos promedio en los grupos de dieta hiperprotéica animal, normoprotéica animal y hiperprotéica vegetal de 58, 60 y 70% de peso respectivamente, sin haber diferencia significativa.

Los 3 grupos tuvieron un control de depuración basal normal sin diferencia significativa ($p:0.1$). No hubo ratas excluidas, el valor de creatinina promedio basal fue de 0.53, con valores normales desde 0.43 a 0.64. Los resultados de la depuración de creatinina expresados en ml/min, en el grupo sometido a dieta hiperprotéica animal, tuvo un incremento en la semana 4 ($p:0.03$) de hasta 32%, alcanzando una meseta en la semana 8 ($p:0.03$) y sin encontrar diferencia significativa al basal en la semana 12 ($p:0.25$). El grupo con dieta normoprotéica animal no tuvo variación estadísticamente significativa, y el grupo con dieta hiperprotéica vegetal incrementó su depuración en la semana 4 ($p:0.03$) hasta en un 60%, alcanzando un máximo incremento en la semana 8 ($p:0.04$) de hasta un 97%, que luego tiende a disminuir hasta la semana 12 ($p:0.08$), pero persistiendo en mayor valor que el basal ($p:0.04$). (ver **figura 1**). Los valores de creatinina en la semana 12 tuvieron un promedio de 0.58, con valores normales desde 0.5 a 0.69.

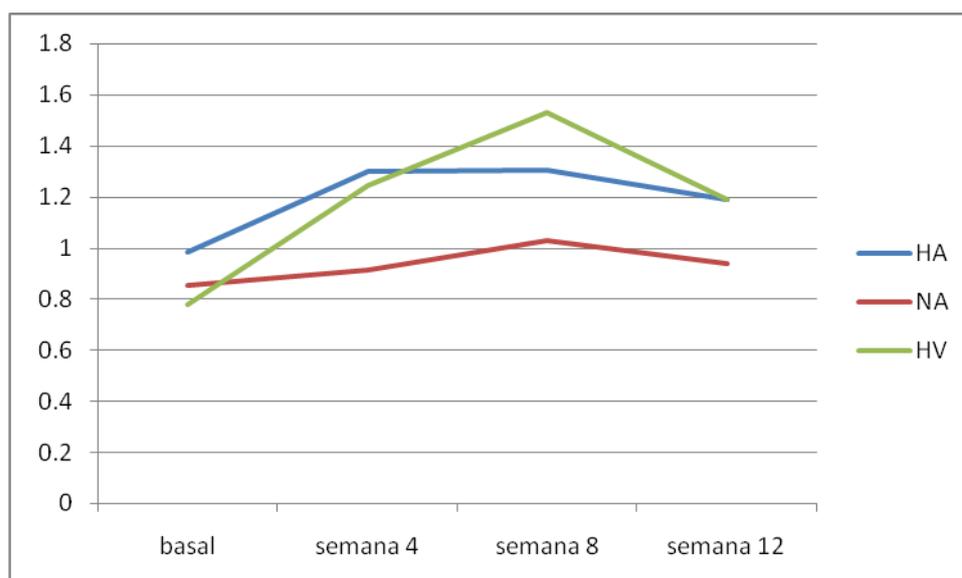


Figura 1. Depuración de creatinina (expresado en ml/min) en el seguimiento en los diferentes grupos de dieta.

Cuando se analizó los resultados de depuración expresados en ml/min/100 g de peso corporal, el grupo sometido a dieta hiperprotéica animal, tuvo un porcentaje de reducción desde el basal hasta la semana 12 en un 22%, pero sin ser significativo en la semana 4 ($p:0.75$), en la semana 8 ($p:0.21$) y en la semana 12 ($p:0.22$). El grupo sometido a dieta normoprotéica animal, tuvo una curva de disminución de la depuración, hasta en un 32% en la semana 12 ($p:0.08$), con un descenso previo en la semana 4 ($p:0.03$), y que se mantuvo en la semana 8 ($p:0.04$). El grupo sometido a dieta hiperprotéica vegetal, no tuvo un porcentaje de variación marcado entre el inicio y comienzo de estudio (basal versus semana 12), pero sí tuvo un incremento de la depuración en la semana 4 y 8, con un incremento de hasta 25% ($p=0.04$), y con un descenso final en la semana 12 ($p=0.27$). (ver **figura 2**). Por lo tanto cuando los resultados se expresan en ml/min o ml/min/100 g peso corporal, había diferencias, lo cual es importante al interpretar los resultados.

Cuadro 4. Seguimiento de la depuración con las diversas dietas. (HA: Hiperproteico animal, NA: Normoproteico animal, HV: Hiperproteico vegetal)

Depuración de creatinina (ml/min)						
	basal	Normosódico (0.25%)	semana 4	semana 8	semana 12	
1A (HA)	1.27		1.37	1.39	Normosódico (0.25%)	0.66
2 ^a	0.95		1.36	1.3		0.93
3 ^a	1.02		1.44	1.12		1.64
4 ^a	0.76		1.38	1.15	Hipersódico (1.5%)	1.41
5 ^a	0.92		1.22	1.44		1.21
6 ^a	0.97		1.01	1.42		1.28
Mediana	0.96		1.37	1.35		1.25
mediana					Normosódico	0.93
					Hipersódico	1.28

1R (NA)	0.74	Normosódico	0.9	0.85	Normosódico (0.25%)	0.81
2R	0.79		0.97	1.11		1.48
3R	0.9		0.92	0.78		0.77
4R	0.62		0.8	0.96	Hipersódico (1.5%)	0.96
5R	1.13		1.17	1.11		0.71
6R	0.93		0.73	1.37		0.72
mediana	0.85			0.91	1.04	Normosódico
Mediana					Normosódico	0.81
					Hipersódico	0.72

1V (HV)	0.71	Normosódico	1.43	1.73	Normosódico (0.25%)	1.16
2V	0.97		1.23	1.57		1.04
3V	0.78		1.11	1.62		1.08
4V	0.85		1.11	1.41	Hipersódico (1.5%)	1.34
5V	0.73		1.07	1.37		0.9
6V	0.63		1.51	1.33		1.51
Mediana	0.76			1.17	1.49	
Mediana					Normosódico	1.08
					Hipersódico	1.34

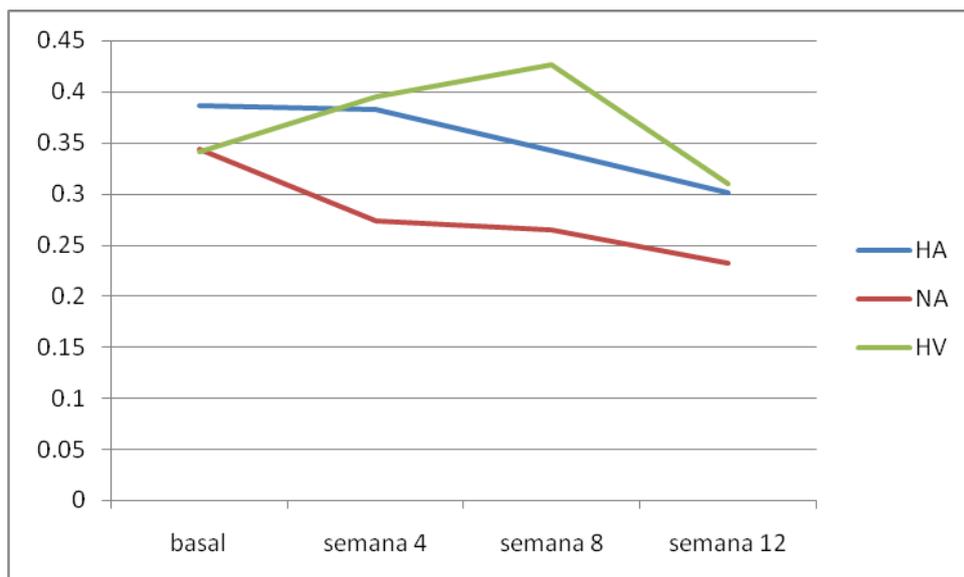


Figura 2. Depuración de creatinina (expresado en ml/min/100 g de peso corporal) en el seguimiento en los diferentes grupos de dieta.

Sobre el resultado de las comparaciones de las depuraciones de creatinina estas se expresaron en ml/min/100 g peso corporal. En el análisis basal, la depuración fue igual en todos los grupos. En la semana 4 y 8, el grupo con dieta normoprotéica animal tuvo menor depuración en comparación al grupo con dieta hiperprotéica animal y vegetal (semana 4: $p=0.04$ y $p=0.004$, y semana 8: $p=0.01$ y $p=0.004$, respectivamente). En la semana 4, el grupo con dieta hiperprotéica animal y hiperprotéica vegetal tuvieron depuración similar ($p=0.94$). En la semana 8 el grupo con dieta hiperprotéica vegetal tuvo mayor depuración que el grupo con hiperprotéica animal ($p=0.01$). En la semana 12, que a su vez, recoge la información luego de la sobrecarga de sal que se realizó desde la semana 8; no se encontró diferencia significativa en relación a los posibles cambios de la depuración luego de la sobrecarga sostenida de sal. En comparación a los que no recibieron la sobrecarga de sal, no hubo variación significativa en el grupo con dieta hiperprotéica animal ($p=0.51$), ni en el grupo con dieta normoprotéica animal ($p=0.40$), ni tampoco en el grupo con dieta hiperprotéica vegetal ($p=0.80$).

En relación al objetivo 2, sobre la determinación de las diferencias en la respuesta natriurética que existen luego de una exposición crónica a una dieta normoprotéica e hiperprotéicas de origen animal y hiperprotéica vegetal, los resultados deben evaluarse hasta antes de la semana 8, pues luego se considera los resultados propiamente del objetivo 3, en el que se determina los cambios de la respuesta natriurética en la misma población, luego de una sobrecarga sostenida de sal. Asimismo se puede apreciar los resultados de seguimiento de natriuresis de todos los grupos en el **cuadro N° 5**. A nivel basal, todas las ratas tuvieron valores de natriuresis normales (con valores desde 28 hasta 88 mmol/24 horas).

Cuadro 5. Seguimiento de natriuresis en los diferentes grupos de dietas (HA: Hiperproteico animal, NA: Normoproteico animal, HV: Hiperproteico vegetal). Resaltado los grupos que fueron sometidos a sobrecarga de sal.

seguimiento de sodio urinario (mmol/24 h)										
semana	basal	1	2	3	4	6	8	9	11	12
1A (HA)	70	101	105	42	48	36	28	24	23	44
2 A	83	135	125	67	49	57	26	31	22	14
3 A	77	103	105	40	49	45	23	21	38	21
4 A	81	150	102	38	46	56	71	192	105	107
5 A	75	98	101	62	52	58	54	87	90	78
6 A	70	100	103	45	30	42	23	61	136	81
1R (NA)	28	129	101	48	53	40	25	23	52	29
2R	29	119	130	48	55	51	53	27	38	33
3R	28	122	137	49	56	55	62	22	40	30
4R	72	139	136	44	52	36	37	56	172	106
5R	28	137	126	81	77	66	53	46	164	79
6R	35	120	130	56	28	60	80	98	59	124
1V (HV)	88	63	48	36	22	41	22	18	37	27
2V	88	88	34	34	53	49	36	50	46	34
3V	81	102	42	67	35	39	48	45	34	37
4V	78	90	25	25	30	54	26	122	108	80
5V	76	91	23	35	29	31	28	138	102	34
6V	66	86	29	34	28	46	24	46	181	71

Sobre los resultados del objetivo 2, el grupo con dieta hiperprotéica animal, incrementó su natriuresis en la semana 1 y 2 ($p=0.03$), y luego disminuyó desde la semana 3 hasta la 8, con valores de natriuresis en el rango normal ($p=0.03$). El grupo con dieta normoprotéica animal, incremento su natriuresis en la semana 1 ($p=0.03$), y luego regresa a su basal desde la semana 3 ($p=0.03$). El grupo con dieta hiperprotéica vegetal no tuvo incremento de la natriuresis, disminuyendo su natriuresis en la semana 2 ($p=0.03$), y manteniendo ese rango hasta la semana 8 ($p=0.04$). Por lo tanto, el grupo con dietas de origen animal hiperprotéica o normoprotéica, tuvieron incrementos iniciales de natriuresis que luego tienden a disminuir, a diferencia de la dieta de origen vegetal que no cursa con dicho incremento y más bien se asocia a un menor nivel de natriuresis (ver **figura 3**).

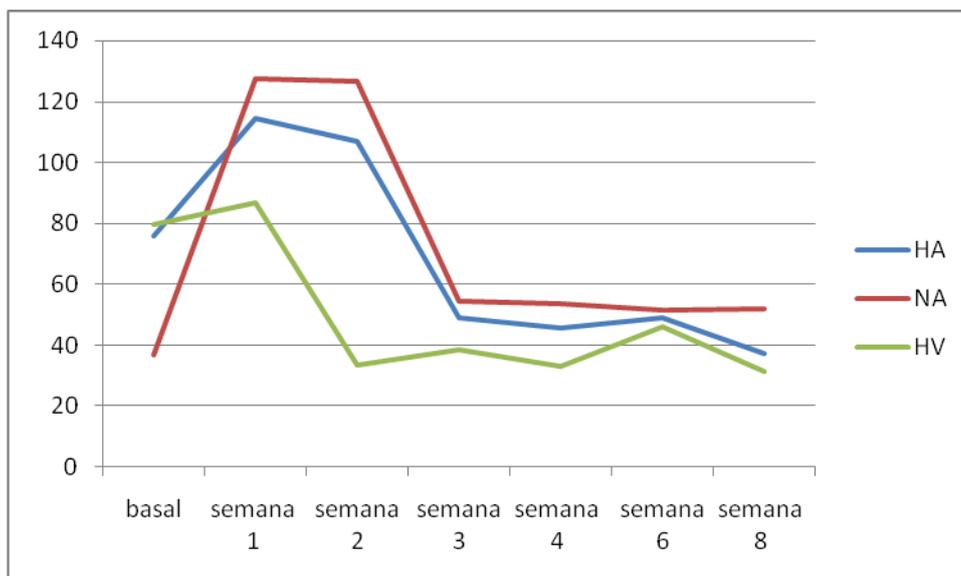


Figura 3. Natriuresis en las primeras 8 semanas de seguimiento en los diferentes grupos de dieta

En relación a los resultados del objetivo 3, se encontró un incremento de la natriuresis en todos los grupos sometidos a sobrecarga de sal en las diferentes dietas ($p=0.11$). La semana 11, fue el de mayor nivel de natriuresis encontrada en los subgrupos sometidos a sobrecarga de sal con dieta hiperprotéica animal ($p:0.05$), con dieta normoprotéica animal ($p:0.08$) y con dieta hiperprotéica vegetal ($p:0.08$). En la semana 12 el nivel de natriuresis fue mayor que los que no recibieron la sobrecarga de sal, tanto en el subgrupo de dieta hiperprotéica animal ($p=0.05$), en el de dieta

normoprotéica animal ($p=0.08$), y el de hiperprotéica vegetal ($p=0.14$), como se aprecia en la figura 4. Las figuras del N° 5 al 10, se muestran considerando los resultados obtenidos desde el basal hasta la semana 12, de los grupos que fueron sometidos a sobrecarga de sal en los 3 tipos de dietas, y su comparación con los que no se sometieron a dicha sobrecarga (separados desde la semana 8).

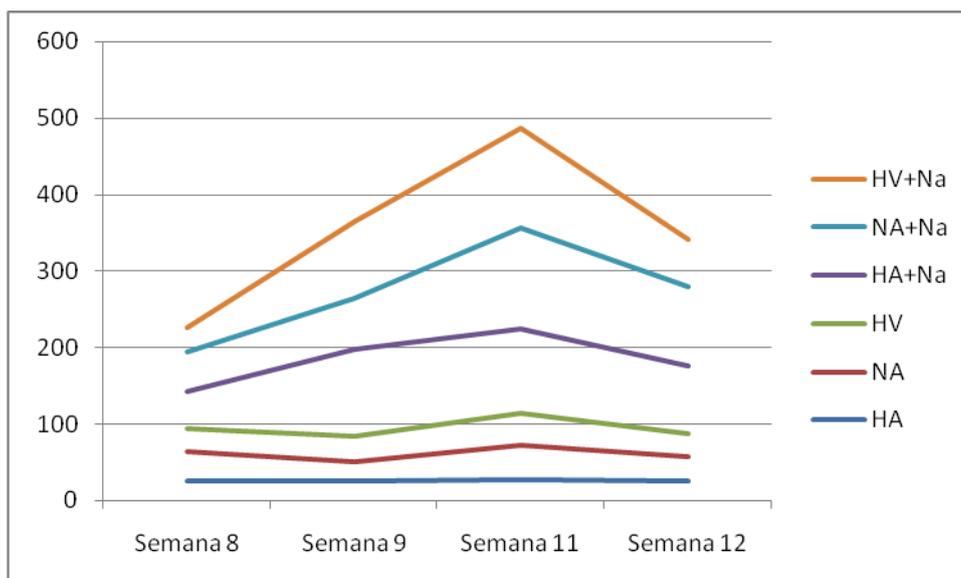


Figura 4: Curva de natriuresis desde la semana 8 hasta semana 12, en donde se separan tres grupos de dietas en subgrupos sometidos o no a sobrecarga sostenida de sal. Los grupos sometidos a sobrecarga sostenida de sal tuvieron mayor natriuresis.

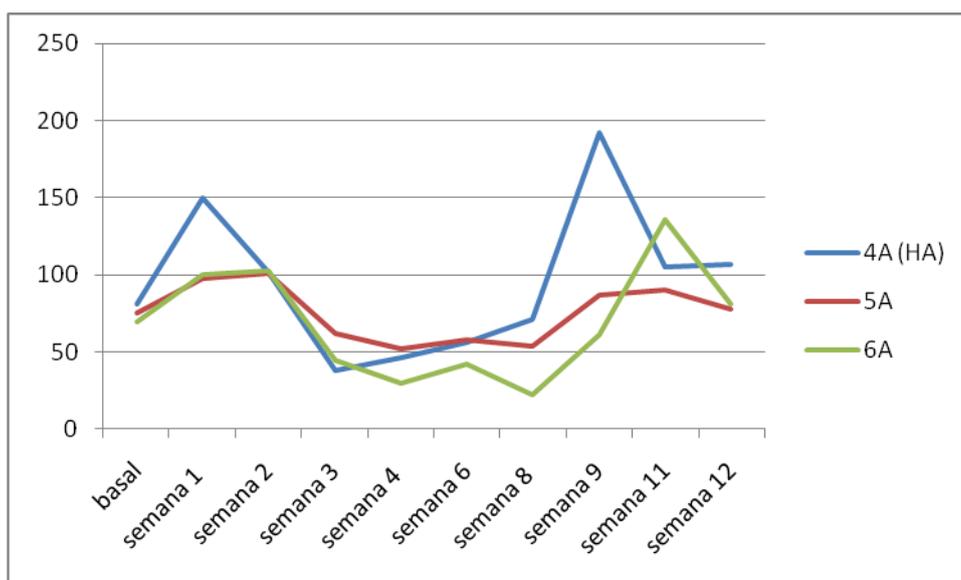


Figura 5. Curva de natriuresis en el grupo con dieta hiperprotéica animal. El grupo fue expuesto a sobrecarga de sal desde la semana 8. La diferencia de incremento porcentual entre la semana 1 y 11 solo fue de 5%.

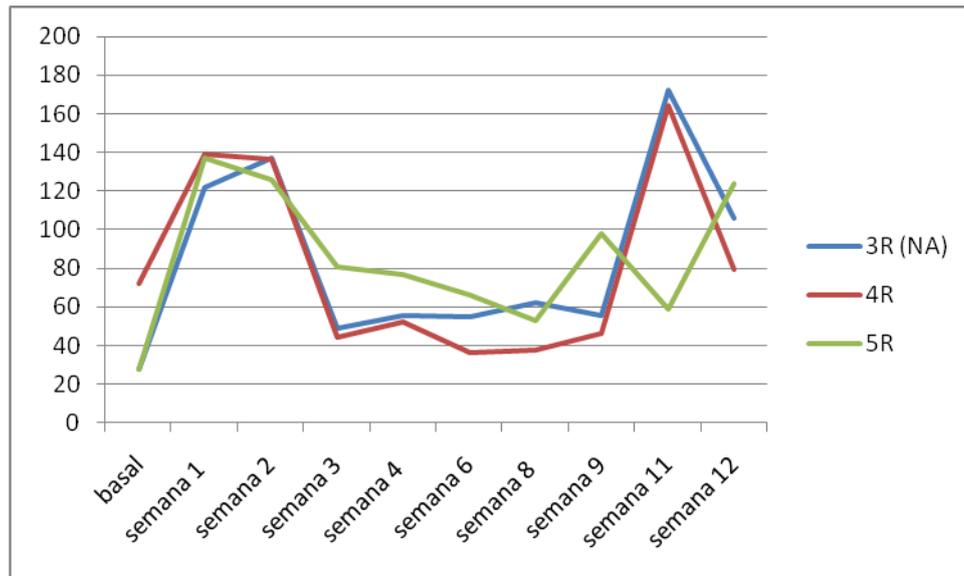


Figura 6. Curva de natriuresis en el grupo con dieta normoprotéica animal. El grupo fue expuesto a sobrecarga de sal desde la semana 8. No hubo diferencia porcentual entre el incremento de la semana 1 y 11.

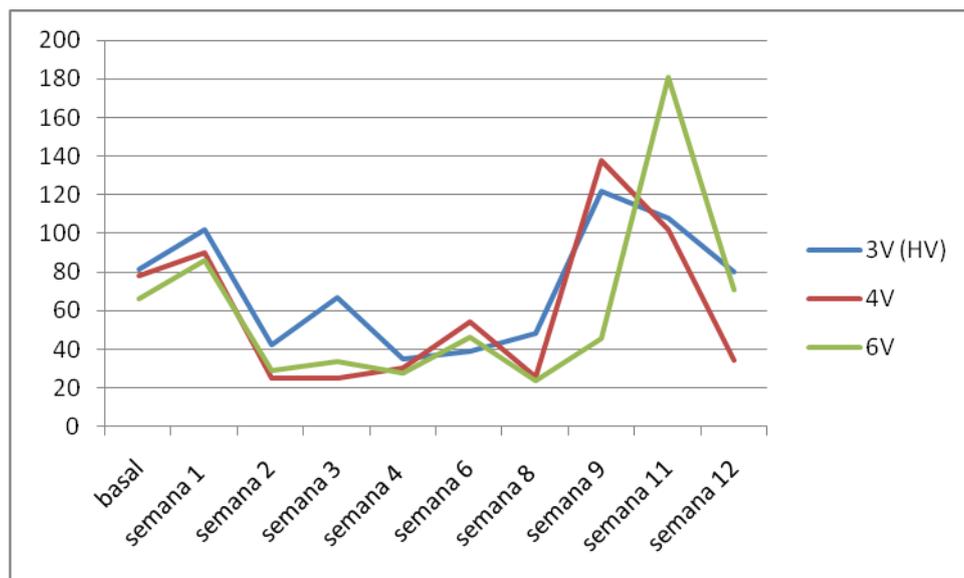


Figura 7. Curva de natriuresis en el grupo con dieta hiperprotéica vegetal. El grupo fue expuesto a sobrecarga de sal desde la semana 8. La diferencia de incremento porcentual entre la semana 11 y 1 fue de 41%.

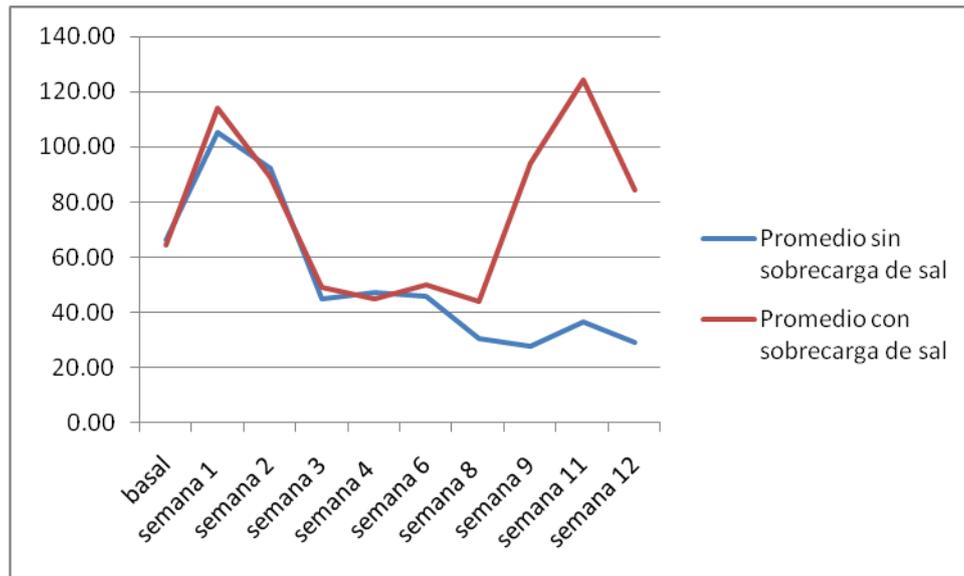


Figura 8. Curvas comparativas promedio entre los grupos expuestos a sobrecarga de sal desde la semana 8 versus los no expuestos. Obsérvese el incremento de natriuresis en la semana 1 y 11.

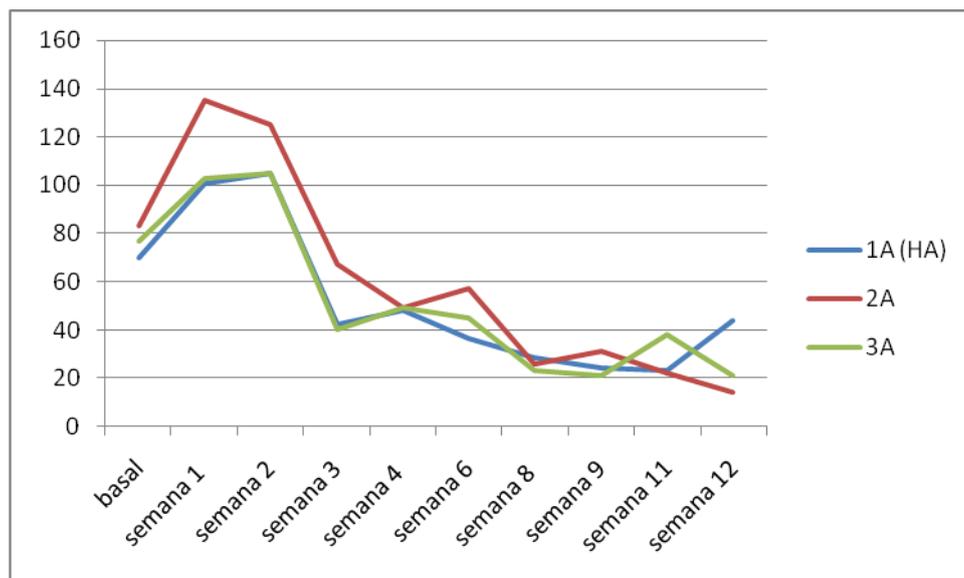


Figura 9. Curva de natriuresis en el grupo con dieta hiperprotéica animal. El grupo no fue expuesto a sobrecarga de sal desde la semana 8.

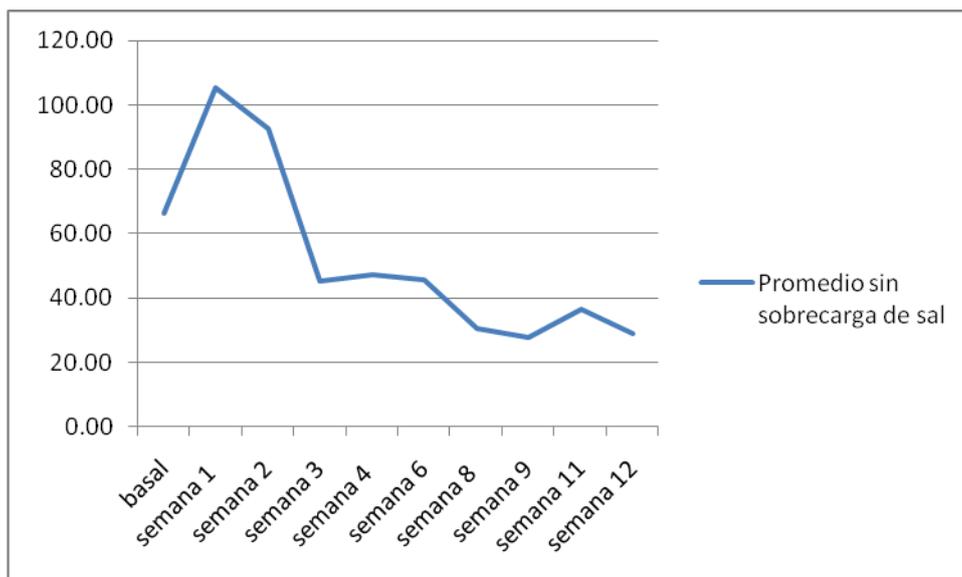


Figura 10. Curva de natriuresis promedio de los 3 grupos de dieta que no fueron expuestos a sobrecarga de sal desde la semana 8.

Se analizó la correlación entre depuración de creatinina y natriuresis, sin encontrarse ninguna correlación positiva o negativa: Basal: $R: -0.08$; $p: 0.76$, Semana 4: -0.26 ; $p: 0.30$, Semana 8: -0.25 ; $p: 0.33$ y Semana 12: -0.08 ; $p: 0.77$. Como se muestra en las figura 11, las curvas de depuración y de natriuresis no se correspondieron en el seguimiento.

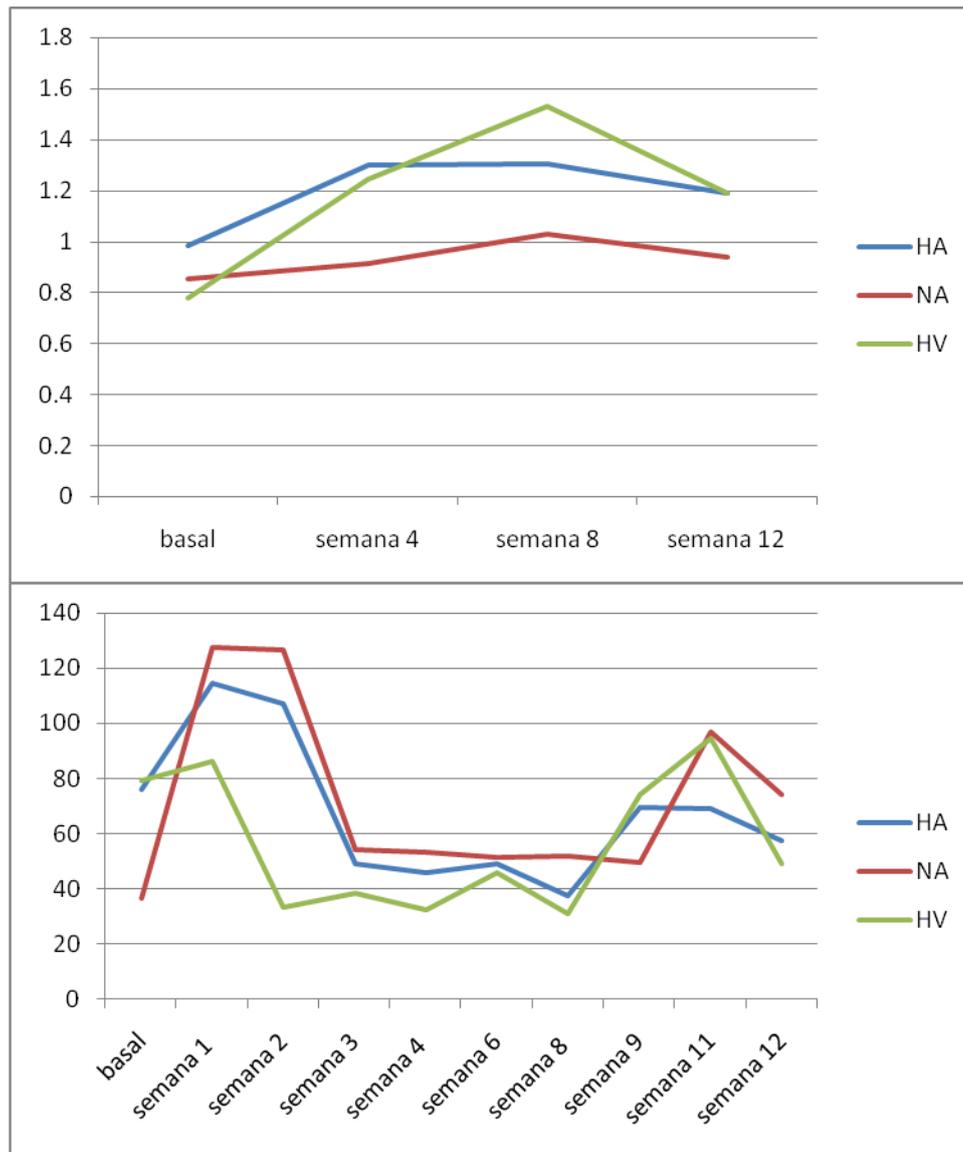


Figura 11. Comparación de las curvas de depuración y natriuresis durante el seguimiento de estudio. No hubo correlación en las semanas 0, 4, 8 y 12.

4.2. Pruebas de Hipótesis

Para el análisis estadístico de los resultados del objetivo 1 (determinación de los cambios de la reserva funcional renal frente a la exposición crónica de las dietas hiperprotéica y normoprotéica de origen animal, y la hiperprotéica vegetal), se utilizó la prueba estadística de Wilcoxon, para evaluar el cambio de depuración entre dos muestras de depuración relacionadas (muestras de depuración intragrupo). Para el análisis comparativo de las depuraciones entre los diferentes grupos de dieta se utilizaron las pruebas estadísticas U de Mann-Whitney y de Kruskal Wallis, para mediciones no relacionadas de 2 y 3 grupos respectivamente.

Para el análisis estadístico de los resultados del objetivo 2, se utilizaron las pruebas estadísticas de Wilcoxon y de Friedman para muestras relacionadas entre 2 y 3 mediciones respectivamente (muestras de natriuresis intragrupo).

Para el análisis estadístico de los resultados del objetivo 3, se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney, para muestras no relacionadas de dos grupos (muestras de natriuresis del grupo sometido a sobrecarga de sal versus el no sometido). La prueba estadística de correlación entre depuración y natriuresis utilizó la prueba estadística de Rho de Spearman.

4.3. Análisis, Interpretación y Discusión de Resultados

En relación a los resultados relacionados al objetivo 1 sobre los cambios de la reserva funcional renal frente a los diferentes tipos de dieta, la dieta hiperprotéica animal (30%) en el seguimiento de su depuración estableció la presencia de una reserva funcional renal sostenida en las semanas 4 y 8, y que tuvo tendencia a disminuir en la semana 12. No se excluye su presencia en semanas previas en las que no se analizó la depuración. Por lo tanto, se encuentra una reserva funcional renal de hasta 32%, 4 a 8 semanas posterior a una sobrecarga proteica animal.

El grupo con dieta normoprotéica animal (18%), no tuvo variación significativa en el seguimiento. Cuando se evaluó el resultado al expresarse en ml/min/100 g peso corporal, se observó más bien una disminución de la depuración. En este sentido es importante señalar que ninguno de los grupos sometidos a diferentes dietas, tuvieron valores creatinina basales ni en el seguimiento de insuficiencia renal, y todos estuvieron en valores normales. Asimismo todas las ratas incrementaron de peso acorde a la edad y según guías de referencia (Krinke, 2000) (Provoost, Keijzer, & Wolff, 1983), lo que además permite compararlas. Se conoce por estudios de fisiología renal en ratas, que los valores de depuración de creatinina expresados por ml/min/100g de peso, tienden a disminuir cuando la rata supera los 120 a 150 g. (ver figura 12). Asimismo, cuando los valores de depuración de creatinina son expresados por ml/min, no se describen mayores incrementos, cuando el peso supera los 250 g (ver figura 13). Los resultados de la depuración de seguimiento expresado en ml/min/100 g en el grupo sometido a dieta normoprotéica, es acorde a lo descrito en la literatura. No se describió en este grupo ninguna variación estadísticamente significativa.

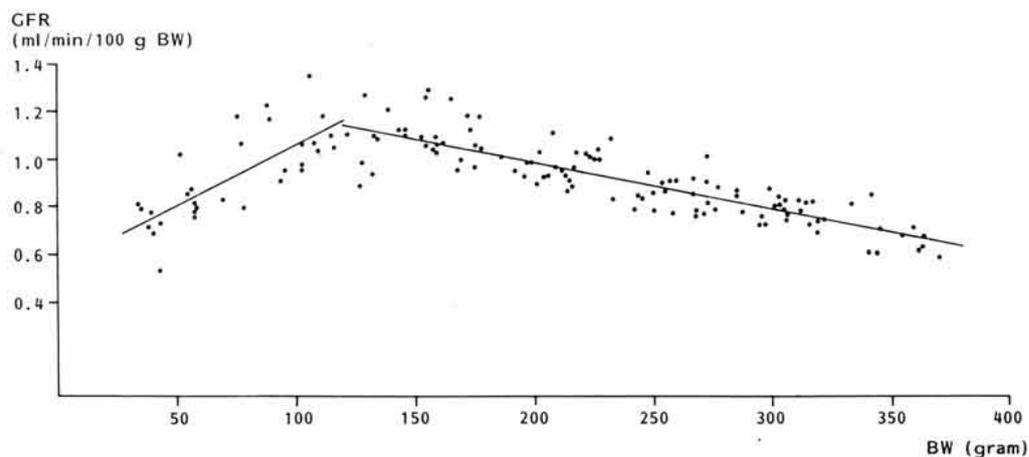


Figura 12. **Depuración de creatinina expresada en ml/min/100 g de peso corporal, durante el crecimiento normal de las ratas.** Fuente. Provoost A, Keijzer M, Wolff E, et al. Development of renal function in the rat, *Renal Physiol* 1983; 6: 1-9.

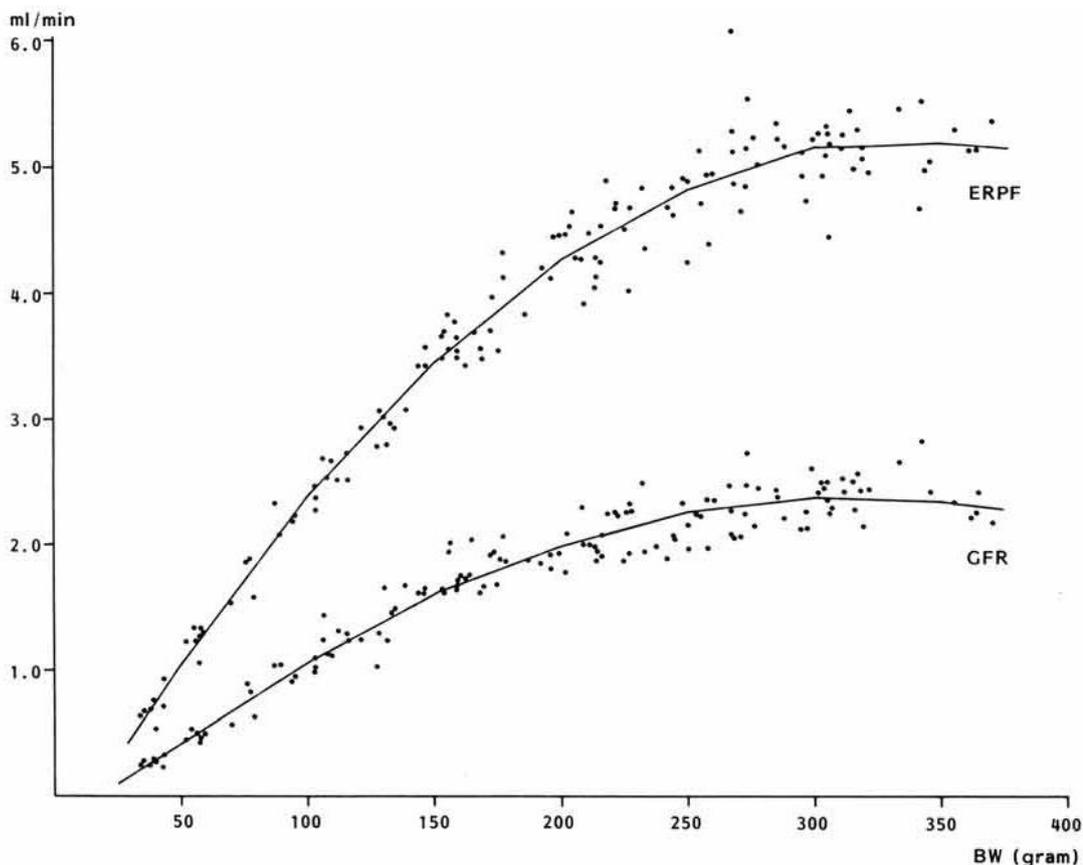


Figura 13. **Depuración de creatinina expresada en ml/min, durante el crecimiento normal de las ratas.** Fuente. Provoost A, Keijzer M, Wolff E, et al. Development of renal function in the rat, Renal Physiol 1983; 6: 1-9.

El objetivo 1 de estudio, era establecer la presencia o no de reserva funcional renal. Por lo mismo, que no se aprecia dicha reserva en el grupo sometido a dieta normoprotéica animal, pero si en el grupo sometido a dieta hiperprotéica animal a las 4 y 8 de 32%. No era esperable el incremento de filtración glomerular con una dieta normoprotéica, ya que no ha sido vinculada a hiperfiltración renal en estudios previos.

El grupo con dieta hiperprotéica vegetal (30%) más bien, mostró un incremento en las semanas 4 y 8, llegando a tener una reserva funcional renal de hasta un 97% en la semana 8, pero que posteriormente tiende a autoregularse disminuyendo en la semana 12 en relación a la semana 8. En este sentido es importante analizar la fuente proteica de las dietas en estos resultados. Comparativamente la fuente proteica animal fue carne de pollo (harina de aves), a diferencia del grupo con fuente proteica vegetal, que utilizó harina de soya. Como se

ha señalado, la harina de aves está constituida hasta en un 77% por proteína, a diferencia de la harina de soya que está constituida hasta en un 47%. La harina de aves contiene según el aminograma mostrado, posee mayor cantidad de aminoácidos esenciales, aromáticos y de cadena ramificada. Los aminoácidos descritos con mayor capacidad de generar hiperfiltración, han sido vinculados en humanos con mayores concentraciones de arginina, alanina, fenilalanina y metionina (Giordano, Castellino, & McConnell, 1994), los cuales efectivamente se encontraban en mayor cantidad en el grupo que recibió dieta hiproteica animal.

Existen diversas publicaciones que muestran el incremento agudo de la reserva funcional renal luego de someterse a una dieta hiperprotéica animal (Santo, Anastasio, P, & Cirillo, 1995; King & Levey, 1993) y que es mayor que cuando se expone a una fuente vegetal (Friedman, 2004). Por otro lado, existe un estudio que compara la reserva funcional renal entre la carne de res y la carne de aves, encontrando que inducen un similar grado de hiperfiltración. Bajo esta premisa, era esperable la presencia persistente de una mayor reserva funcional renal en el grupo con dieta hiperprotéica animal, que sin embargo en el estudio fue mayor en el grupo con dieta hiperprotéica vegetal. En relación, al tiempo de seguimiento del incremento de la depuración de creatinina, las publicaciones muestran el incremento agudo en la reserva funcional renal luego de una exposición a dieta hiperprotéica, pero estudiando escasamente su seguimiento (Burtin, Laouari, & Kindermans, 1994; Santo, Anastasio, P, & Cirillo, 1995). Un estudio menciona que la normalización de la depuración de creatinina ocurre en 1 mes, en niños con kwashiorkor sometidos a una mayor ingesta proteica, y que no es sostenida en el tiempo. Es de considerarse en este caso, que la reserva funcional renal se evidenció a las 4 y 8 semanas en forma persistente en los grupos sometido a dietas hiperprotéicas. Un estudio previo no había reportado cambios en la depuración, luego de someterse a una dieta con proteína vegetal de soya (1g/Kg/d), pero que se realizó solo hasta 3 semanas de seguimiento (Kontessis, Jones, & Dodds, 1999). En este sentido, el objetivo de estudio fue evaluar no los cambios agudos que ya son conocidos, sino los cambios crónicos, productos de mecanismos de adaptación fisiológica. Finalmente, en el grupo expuesto a dieta hiperprotéica vegetal existe una tendencia a autorregulación que lleva a la disminución a las 12 semanas de seguimiento de la reserva funcional máxima alcanzada.

En relación a los resultados obtenidos del objetivo 2, sobre la determinación de las diferencias en la respuesta natriurética luego de una exposición crónica a una dieta normoprotéica e hiperprotéicas de origen animal, se evidenció un incremento de la natriuresis en las primeras semanas para luego autoregularse y disminuir dicha excreción natriurética desde la tercera semana. El grupo con dieta hiperprotéica vegetal, en cambio no tuvo incremento de natriuresis, y tuvo menores niveles de natriuresis en comparación al resto de grupos. En relación a la natriuresis, si bien en diversas publicaciones se describe el incremento agudo de natriuresis al someterse a dietas hiperprotéicas, poco se ha publicado sobre su seguimiento a largo plazo. En esta investigación, el incremento de natriuresis luego de la exposición a dietas hiperprotéicas no fue sostenida durante el tiempo de seguimiento. En este sentido podrían plantearse diversos mecanismos de regulación fisiológica renal. Se ha considerado por ejemplo, que la disminución de la excreción natriurética puede obedecer a un incremento en la excreción de amonio, el cual reemplazaría al sodio como catión urinario obligado excretado (Friedman, 2004). Asimismo, se ha descrito un incremento en la acción de la bomba Na^+/K^+ ATPasa en el asa ascendente gruesa de Henle, y por ello se reporta un engrosamiento del segmento medular externo en ratas alimentadas con dietas hiperprotéicas (King & Levey, 1993). Otro mecanismo precisa que el incremento del FG contribuye a la velocidad con la que se reabsorben estos solutos, incluido el cloruro de sodio a nivel del tubuli proximal, lo cual se ha observado en pacientes mononefrectomizados con filtrado glomerular aumentado secundario (Friedman, 2004). Los resultados del estudio al realizar el seguimiento intragrupo, sugieren que existirían diversos mecanismos de autorregulación renal que explicarían un ahorro de sodio, sin permitir una continua excreción urinaria de sodio en el tiempo, pese a haber sido sometido a dietas de origen animal, que incrementan su excreción inicial.

Los resultados del objetivo 3 deben interpretarse en el contexto experimental logrado hasta la semana 8. Se considera hasta antes de la exposición a sobrecarga sostenida de sal, que ha existido una menor excreción de sodio en probable relación a un ahorro de sodio, y que ocurre también en grupos sometidos a dieta hiperprotéica con hiperfiltración renal. En este sentido, la evaluación de los resultados del objetivo 3 considera un análisis comparativo de diferentes grupos de ratas que habían tenido

una natriuresis reducida con o sin hiperfiltración renal y que son o no sometidos a sobrecarga sostenida de sal. Los resultados mostraron que en todos los grupos de dieta la capacidad natriuretica estuvo conservada luego de la sobrecarga de sal desde la semana 8, por lo que esta respuesta no necesariamente se relacionaría a los cambios inducidos previamente por una hiperfiltración renal. Asimismo, considerando estas dos variables, se analizaron su posible correlación durante el seguimiento del estudio.

Sobre la correlación entre natriuresis y depuración, a nivel basal no hubo correlación. Posteriormente fue importante analizar si existía alguna correlación entre depuración y natriuresis ya que ambos mecanismos fisiológicamente podrían relacionarse por mecanismos de hiperfiltración con vasodilatación a nivel preglomerular. Por ello, el diseño de esta investigación comprendía la evaluación de posibles cambios luego de una sobrecarga proteica y una sobrecarga salina. En los picos de natriuresis de la semana 1 y 11, no fue posible concluir alguna correlación porque no se realizó mediciones de depuración en esas semanas. En las semanas 4, 8 y 12 no se encontró correlación, agregando que fue desde la semana 8 que un grupo de ratas recibió una sobrecarga salina. Sin embargo es importante analizar la no correlación positiva en las semanas 4 y 8. En estas semanas, el hallazgo más importante fue el incremento de la depuración en el grupo sometido a dieta hiperprotéica vegetal, que tuvo un incremento de hasta el 97% en la semana 8 ($p:0.04$); sin embargo, el nivel de natriuresis en este mismo grupo fue menor al del resto de grupo y se mantuvo desde la semana 2 hasta la 8 ($p:0.04$). Por lo tanto no hubo ninguna correlación positiva que podría esperarse en relación a un incremento de la depuración e hiperfiltración renal relacionado a un incremento de la natriuresis.

Se han descrito diversos mecanismos con capacidad de modular la hemodinamia glomerular frente a una dieta hiperprotéica. Anteriormente Brenner había sugerido la presencia de un factor humoral que incrementaba la TFG y que se secretaba en consecuencia de una sobrecarga proteica, como el glucagon o hormona de crecimiento. Además se correspondía que el uso de somatostatina, atenuaba el efecto de la sobrecarga proteica sobre la TFG, vinculándose así a la inhibición de estas hormonas. Sin embargo, actualmente se conoce que dichas hormonas no participan directamente en los cambios de la TFG (Sreekumaran, Pabico, & Truglia,

1994) y de allí que se conoce más la participación de sustancias vasoactivas locales. Se han implicado en esta respuesta, el sistema renina-angiotensina, eicosanoides, la glomerulopresina, kalikreinas y el óxido nítrico (King & Levey, 1993, Tolins & Raij, Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics. Role of endothelium derived relaxing factor., 1991). Los efectos fisiológicos conocidos de los cambios de la hemodinamia glomerular frente a una dieta hiperprotéica incluyen incremento de la TFG, FPR, no cambios en la fracción de filtración y disminución de la resistencia vascular renal (Fernandez, Van Loon, & Maldonado, 1989; Giordano, Castellino, & McConnell, 1994).

Existen reportes que han vinculado a las kalikreinas por su capacidad vasoactiva. El uso de aprotinina como inhibidor de la kalikreina, reduce la tasa de filtración glomerular y el flujo plasmático renal en ratas diabéticas hiperfiltrantes. Asimismo, el nivel de kalikreinas aumenta, junto con el de la TFG, luego de someter ratas a una dieta hiperprotéica (50%) (Jaffa, Silva, & Kim, 1996). Otro estudio precisa que la producción de PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ están incrementados en ratas que ingirieron una dieta hiperprotéica (40%), así como la producción de renina plasmática. Este efecto fue atenuado con el uso de enalapril (Don, Blake, & Hutchison, 1989). En general, está bien demostrada la capacidad vasodilatante preglomerular generada luego de una sobrecarga proteica. Sin embargo, esto no se corresponde con cambios en la natriuresis como se aprecia en este estudio. La natriuresis si bien depende de la carga filtrada y esto a su vez de la filtración glomerular, existe una contraregulación tubular que se encargaría de incrementar su reabsorción a través de varios mecanismos ya mencionados. Se debe enfatizar además que este mecanismo no guarda correspondencia con la respuesta fisiológica de feedbacktubuloglomerular, ya que en este mecanismo, frente a incremento de la perfusión glomerular o aumento de la carga filtrada de sodio (como ocurre luego de la exposición a una dieta hiperprotéica), y con mayor aporte de sodio a nivel distal, genera una respuesta mediada por péptidos tipo adenosina, para disminuir la perfusión pre-glomerular, sin que incluya cambios o incrementos en la reabsorción tubular. Por otro lado, si hay menor aporte de sodio a nivel distal como consecuencia de una menor carga filtrada, se genera la contraregulación mediada por sustancias vasoactivas tipo PgE_2 . Sin embargo este mecanismo fisiológico que está bien establecido, no corresponde a los resultados apreciados en la investigación, en donde

como mecanismo de adaptación crónica, ocurre un aumento persistente en la filtración glomerular asociada a menor excreción natriuretica (Brenner & Rector, 2005).

Si se intenta analizar el rol de las prostaglandinas para explicar estos cambios, se conoce que estas sustancias generan incremento de la natriuresis, así como su inhibición la atenúa (Brenner & Rector, 2005). Por esta razón, fisiológicamente las prostaglandinas si bien generan incrementos de la TFG luego de una carga proteica, no justifican una menor natriuresis. La no correspondencia positiva de natriuresis y filtración glomerular luego de una sobrecarga proteica ha sido demostrada parcialmente en un estudio, en la que en sujetos sanos, se indujo una depleción salina, con posterior administración de aminoácidos por vía parenteral asociado a dopamina, generando un incremento de la TFG, sin que la excreción natriuretica se incrementara significativamente (Memoli, Libetta, & Sabbatini, 1991).

Mas allá del mecanismo de feedback tubuloglomerular, o del rol de las prostaglandinas, se puede reconsiderar el rol del sistema renina angiotensina aldosterona. Como se ha referido antes, luego de una sobrecarga proteica existe un incremento en el nivel de renina que estimula a este sistema, asimismo existe una gran concentración de angiotensina II secretada a nivel de luz del epitelial proximal de la nefrona (1000 veces más que en plasma), lo cual connota una gran participación. Se sabe que la angiotensina II posee acciones intrarrenales directas como la reabsorción de sodio a nivel del túbulo proximal (en especial a nivel del receptor AT1) (Gurley, Riquier, & Schnermann, 2011) o sobre las bombas Na-K-ATPasa, que justamente son los mecanismos que se han descrito en la contraregulación tubular de manejo de sodio frente a una sobrecarga proteica. Por otro lado, la angiotensina II, incrementa la tasa de filtración glomerular gracias a su mecanismo vasoactivo a nivel de la circulación eferente glomerular. Asimismo, el bloqueo de este sistema atenúa la respuesta de reserva funcional renal luego de una sobrecarga proteica, y genera natriuresis. Por estas razones, es que en esta investigación se considera como posible mecanismo de adaptación fisiológica, al sistema renina angiotensina aldosterona, que justificaría la presencia de hiperfiltración más reducción de natriuresis frente a la exposición crónica de una dieta hiperprotéica.

Cuando se administra una sobrecarga de sal, este sistema renina angiotensina es bloqueado, con reducciones en el nivel de angiotensina II, y además evitando la acción de la reabsorción tubular de sodio por el receptor AT1, y con un incremento en la respuesta natriurética en consecuencia (Kjolby & Bie, 2008). A su vez, esta acción natriurética se relaciona a la acción de la angiotensina II en su receptor AT2, que posee capacidad de interacción con el receptor de la dopamina D1 like, que normalmente es responsable entre un 50 a 60% de la excreción basal de sodio, generando una inhibición de la reabsorción de sodio a nivel del túbulo proximal (Carey & Padia, 2013). Por otro lado, la angiotensina II, genera angiotensina 1-7, la cual promueve la natriuresis (Crowley & Coffman, 2012).

El sistema renina angiotensina en sus interacciones fisiológicas, explicaría los resultados obtenidos en esta investigación relacionados a la natriuresis y sobrecarga de sal, en donde la respuesta natriurética se preservó luego de dicha sobrecarga, sin sufrir modificaciones por la exposición previa a dietas hiperprotéicas. Fisiológicamente, otras sustancias han sido relacionadas por su capacidad natriurética como la endotelina 1, que en interacción a su receptor ETA a nivel de la medula renal favorece la natriuresis, sin embargo, por su acción vasoconstrictora, y su no relación con una dieta hiperprotéica no se considera un posible rol en este estudio (Nakano & Pollock, 2012).

CONCLUSIONES

1. La exposición a una dieta hiperprotéica de origen animal o vegetal incrementa la reserva funcional renal.
2. Una dieta hiperprotéica vegetal, tiene la capacidad de incremento de la reserva funcional renal hasta en un 97%, y no necesariamente es menor que el incremento generado por una dieta hiperprotéica de origen animal.
3. La exposición a una dieta hiperprotéica animal o vegetal genera un incremento de la reserva funcional renal que puede observarse hasta luego de 8 semanas de seguimiento.
4. Una dieta de origen animal genera mayor incremento en la natriuresis en una fase inicial de hasta 2 semanas, en comparación a una dieta de origen vegetal, la cual no incrementa la natriuresis.
5. Existen un mecanismo de autorregulación crónico de la capacidad natriuretica que conlleva a una menor capacidad de excreción de sodio luego de haber tenido un incremento inicial tras la exposición a dietas de origen animal.
6. Un incremento sostenido de la reserva funcional renal o hiperfiltración asociado a la exposición de dieta hiperprotéicas de origen animal o vegetal, no se asocia crónicamente a incrementos en la natriuresis.
7. La capacidad natriuretica frente a una sobrecarga sostenida de sal, se encuentra conservada luego de someterse a una exposición crónica de dietas hiperprotéicas animales o vegetales.
8. La exposición a una dieta hipersódica luego de una previa exposición a una dieta hiperprotéica de origen animal o vegetal, no genera cambios en depuración de creatinina.

RECOMENDACIONES

1. Continuar con el proceso de investigación para evaluar la interacción fisiológica entre filtración glomerular mas la reserva funcional renal asociada a la ingesta de dietas hiperprotéicas, con el sistema renina angiotensina aldosterona.
2. Considerar como variables a investigar además de la natriuresis de 24 horas, la excreción fraccionada de sodio y la concentración de angiotensina 2.
3. Considerar realizar un ensayo experimental a evaluar el efecto del uso de fármacos tipo inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina 2 versus bloqueadores de los receptores de la angiotensina 2, en el proceso de investigación señalado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Academies, I. (2005). *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Washington DC: The National Academies Press.
2. Avendaño, H. (2003). *Nefrología Clínica* (2 ed.). España: Sanders.
3. Ayad, A., Silva, R., & Kim, B. (1996). Modulation of renal kalikrein production by dietary protein in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Am Soc Nephrol* , 7, 721-27.
4. Barai, S., Gamnhir, S., Prasad, N., Sharma, R., & Ora, M. (2010). Functional renal reserve capacity in different stages oh chronic kidney disease. *Nephrology* , 15, 350-53.
5. Brenner, & Rector. (2005). *El Riñón. Tratado de Nefrología* (7 ed.). España: Panamericana.
6. Burtin, M., Laouari, D., & Kindermans, C. (1994). Glomerular response to acute protein load is not blunted by high protein diet or nephron reduction. *Am J Physiol Renal Physiol* , 266, F746-755.
7. Carey, R., & Padia, S. (2013). Role of angiotensin AT2 receptors in natriuresis: Intrarenal mechanisms and therapeutic potential. *Clin Exp Pharmacol Physiol* , 22, 1681-90.
8. Council, N. R. (2005). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8 ed.). USA: National Academy Press.
9. Council, N. R. (1995). *Nutrient Requeriments of Laboratory Animals* (4 ed.). USA: National Academy Press.
10. Crowley, S., & Coffman, T. (2012). Recent advances involving the rennin angiotensin system. *Experimental Cell Research* , 318, 1049-1056.
11. Don, B., Blake, S., & Hutchison, F. (1989). Dietary protein intake modulates glomerular eicosanoid production in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* , 256, F711-718.
12. Esposito, C., Plati, A., & Mazzullo, T. (2007). Renal function and functional reserve in healthy elderly individuals. *J Nephrol* , 20, 617-25.
13. Fernandez, E., Van Loon, P., & Maldonado, M. (1989). Renal and systemic effects of short term High protein feeding in normal rats. *Am J Med Sci* , 297 (6), 348-354.

14. Friedman, A. (2004). High protein diets: Potential effects on the kidney in renal Health and disease. *American J Kid Dis* 2004 , 44 (6), 950-622.
15. Giordano, M., Castellino, P., & McConnell. (1994). Effect of amino acid infusion on renal hemodynamics in humans: a dose-response study. *Am J Physiol Renal Physiol* , 267, F703-708.
16. Gurley, S., Riquier, A., & Schnermann, J. (2011). AT1a angiotensin receptors in the renal proximal tubule regulate blood pressure,. *Cell Metabolism* , 13, 469-475.
17. Hayo, C. (2010). Physiology of Kidney Renin. *Physiol Rev* , 90, 607-673.
18. Heguilen, R., Liste, A., & Bellusci, A. (2007). Renal response to an acute protein challenge in pregnant women with borderline hypertension. *Nephrology* , 12, 254-260.
19. Jaffa, A., Silva, R., & Kim, B. (1996). Modulation of renal kallikrein production by dietary protein in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of the American Society of Nephrology* , 7, 721-727.
20. King, A., & Levey, A. (1993). Dietary Protein and Renal Function. *Journal of American Society of Nephrology* , 3, 1723-1737.
21. Kjolby, M., & Bie, P. (2008). Chronic activation of plasma rennin is logarithmically related to dietary sodium and eliminates natriuresis in response to a pulse change in total body sodium,. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* , 294, 17-25.
22. Kontessis, P., Jones, S., & Dodds, R. (1999). Renal, metabolic and hormonal responses to ingestion of animal and vegetable proteins. *Kidney International* , 38, 136-144.
23. Krinke, G. (2000). *The Laboratory Rat*. USA: Elsevier Science & Technology.
24. Martus, W., Kim, D., & Garvin, J. (2005). Commercial rodent diets contain more sodium than rats need. *Am J Physiol Renal Physiol* , 288, F428-431.
25. Memoli, B., Libetta, C., & Sabbatini, M. (1991). Renal functional reserve: Its significance in normal and salt depletion conditions. *Kidney International* , 40, 1134-1140.
26. Nakano, D., & Pollock, D. (2012). New concepts in endothelin control of sodium balance. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* , 39, 104-110.

27. Peclý, M., Genelhu, E., & Francischetti, A. (2006). Renal functional reserve in obesity hypertension. *Int J Clin Pract* , 60 (10), 1198-1203.
28. Press, N. A. (19396). *Rodents. Institute of Laboratory Animal Resources.* USA: National Research Council.
29. Provoost, A., Keijzer, M., & Wolff, E. (1983). Development of renal function in the rat. *Renal Physiol* , 6, 1-9.
30. Santo, N., Anastasio, P., & Cirillo, M. (1995). Sequential analysis of variation in glomerular filtration rate to calculate the haemodynamic response to a meat meal. *Nephrology Dial Transplant* , 10, 1629-1636.
31. Sharp. (1998). *The Laboratory Rat.* USA: CRC Pres.
32. Simon, A., Lima, P., & Almerinda, M. (1998). Renal haemodynamic responses to a chicken or beef meal in normal individuals. *Nephrol Dial Transplant 1998* , 13, 2261-2266.
33. Sreekumaran, N., Pabico, R., & Truglia. (1994). Mechanism of glomerular hyperfiltration after a protein meal in humans. *Diabetes Care* , 17 (7), 711-715.
34. Suckow. (2006). *The Laboratory Rat* (2 ed.). USA: Elsevier Academic Press.
35. Suzuki. (s.f.).
36. Suzuki. (2004). *Kidney and Blood Pressure Regulation, 2004, Contributions to Nephrology.* USA: Karger.
37. Tolins, J., & Raij, L. (1991). Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics. Role of endothelium derived relaxing factor. *Hypertension 1991* , 17, 1045-1051.
38. Tolins, J., & Raij, L. (1991). Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics. Role of endothelium-Derived relaxing factor. *Hypertension* , 17, 1405-1051.